

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
3. Mai 2001 (03.05.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/30383 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 39/00,  
39/395, A61P 37/00 // (A61K 39/00, 31:70) (A61K 39/00,  
31:56) (A61K 39/00, 31:57) (A61K 39/00, 31:352) (A61K  
39/00, 31:341) (A61K 39/00, 31:7088) (A61K 39/395,  
39:00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/10594

(22) Internationales Anmeldedatum:  
27. Oktober 2000 (27.10.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 51 970.6 28. Oktober 1999 (28.10.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Aus-  
nahme von US): BIONETWORKS GMBH [DE/DE];  
Jakob-Klar-Strasse 7, 80796 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WILCKENS, Thomas  
[DE/DE]; Jakob-Klar-Strasse 7, 80796 München (DE).

(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9,  
81679 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-  
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts: 8. November 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 01/30383 A3

(54) Title: MEDICAMENT IN ORDER TO INDUCE TOLERANCE

(54) Bezeichnung: ARZNEIMITTEL FÜR DIE TOLERANZINDUKTION

(57) Abstract: The invention relates to a medicament comprising 11- $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors combined with an antigen in order to improve and optimize tolerance induction.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Arzneimittel, umfassend Inhibitoren der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Kombination mit einem Antigen zur Verbesserung und Optimierung der Toleranzinduktion.

## Arzneimittel für die Toleranzinduktion

### Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft ein Arzneimittel für die Induktion von Toleranz, für die Immunmodulation oder/und für die Entzündungshemmung, umfassend Inhibitoren der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD), gegebenenfalls in Kombination mit einem Antigen.

10

Das Immunsystem zeichnet sich durch die Eigenschaft aus, zwischen gefährlichen, krankheitsfördernden körpereigenen und/oder körperfremden und ungefährlichen Antigenen unterscheiden zu können.

15

Als Toleranz wird dabei der Zustand bezeichnet, der sich durch systemische "Passivität" oder auch "Ignoranz" des Immunsystems gegenüber einem spezifischen Antigen auszeichnet. Dabei spielt es keine Rolle, ob dieses Antigen körpereigen (Selbstantigene) oder körperfremd ist. Ein Zusammenbruch der Toleranz führt, wenn körpereigene Antigene kontinuierlich eine Immunabwehr aufrecht erhalten, zu Autoimmunerkrankungen. Überreaktionen gegen *per se* nicht krankheitsfördernde Umweltantigene werden unter dem Begriff Allergien zusammengefaßt. Im Bereich der Transplantationsmedizin spricht man bei unerwünschten Immunreaktionen von einer Abstoßungsreaktion gegen das Transplantat oder, im Falle einer Abwehrreaktion des transplantierten Materials gegen den Empfänger, von "Graft versus Host Disease" (GVHD). Unter den Begriff Toleranz fallen insbesondere eine Desensibilisierung, so daß exogene Stoffe toleriert werden sowie Mechanismen, die zu einer Verringerung von Immunreaktionen auf körpereigene Stoffe führen.

30

- 2 -

Die Qualität der immunologischen Toleranz ist abhängig von der Art des Antigens, sowie von der Form und Dosis, mit welcher es dem Immunsystem präsentiert wird.

5 Man nimmt an, daß Toleranz auf mindestens drei verschiedenen Mechanismen basieren kann. Zum einen werden gefährliche, potentiell autoreaktive T-Zellen, die im Thymus mit dort vorhandenen Antigenen reagieren, negativ selektiert, d.h. sie werden abgetötet (Deletion). Ein weiterer Mechanismus ist die klonale Anergie. Dabei werden T-Zellen, die  
10 zwar ein Antigen auf einer antigenpräsentierenden Zelle erkennen, jedoch nicht bei gleichzeitig vorhandenen costimulatorischen Signalen, deaktiviert und können gegen dieses Antigen auch später keine Immunreaktion mehr hervorrufen. Als dritten Bestandteil der Toleranz nimmt man regulatorische T-Zellen, sogenannte Suppressor-T-Zellen an, welche immunmodulatorisch  
15 auf bereits ausgelöste immunologische Vorgänge wirken können.

Im Falle einer Immunreaktion bei der Eliminierung zum Beispiel eines Virus oder auch bei unspezifischen Entzündungen tragen regulatorische T-Zellen zur Wiederherstellung eines immunologischen Gleichgewichts und zur  
20 Beendigung der Immunreaktion bei. Ein Mangel an Selbstregulation aus ungeklärter Ursache oder die Behinderung derselben z.B. durch Medikamente kann zu einem pathologischen Zustand, wie Autoimmunität und Allergien, oder zu einer unerwünschten Immunreaktion im Bereich der Transplantationsmedizin führen.

25 Autoimmunerkrankungen stellen eine Situation dar, in der die Toleranz ganz oder teilweise zusammengebrochen ist. Sie verlaufen beim Menschen in der Regel chronisch degenerativ. Eine Remission, spontan oder unter immunsuppressiver Therapie, ist bisher nur selten zu beobachten. Je länger  
30 der Krankheitsprozess andauert, desto schwieriger scheint es, den Circulus Vitiosus der chronisch degenerativen Entzündung zu durchbrechen. Mechanismen wie das sog. Epitop-Spreading scheinen dabei eine wichtige

- 3 -

Rolle zu spielen (Craft und Fatenejad 1997; Moudgil 1998; Vaneden, Vanderzee et al. 1998).

5 Orale Toleranz beruht auf der Tatsache, daß oral aufgenommene Antigene in der Regel keine Immunreaktionen hervorrufen und zudem verhindern, daß dasselbe Antigen eine Immunreaktion zur Folge hat, wenn es zu einem späteren Zeitpunkt über eine normalerweise Immunreaktionen erzeugende Route in den Organismus gerät. Dies führte zu intensiven Versuchen, durch die Präsentation (insbesondere durch mukosale Verabreichung) eines  
10 geeigneten spezifischen Antigens oder eines anderen Antigens, welches eine dem krankheitsrelevanten Antigen ähnliche Immunreaktion bewirkt, zu modifizieren bzw. wieder herzustellen (Liblau, Tisch et al. 1997; Weiner 1997; Bonnin und Albani 1998; Strobel und Mowat 1998).

15 In der Medizin spielt die Toleranzinduktion eine zunehmend größere Rolle, insbesondere bei der Bekämpfung von Autoimmunkrankheiten, weiterhin bei der Desensibilisierung gegen Umweltantigene, wie etwa bei der Behandlung von Heuschnupfen und anderen Allergien und von Asthma (Tsitoura et al. 1999; Tsitoura et al. 2000)

20 Neueste Erkenntnisse schreiben der Induktion von Toleranz auch Bedeutung im Bereich der klassischen Impfung zu (McSorley et al. 1999).

25 Moderne immunsuppressive Therapien weisen jedoch immer noch erhebliche Nebenwirkungen auf und sind unzureichend, wenn die Krankheit bereits eingesetzt hat, d.h sie bringen keine Heilung.

Der Erfolg der Toleranzinduktion oder Immunmodulation hängt nach  
30 derzeitigem Wissensstand sowohl von der Art der Präsentation des Antigens als auch dem immunologischen Milieu des Gewebes/Organismus in dem die gewünschte Immunreaktion ablaufen soll statt.

- 4 -

Bezüglich der immunologischen Abläufe, die zur Toleranzinduktion *in vivo* führen, werden verschiedene Theorien zum Teil sehr kontrovers diskutiert.

Bisher ging man davon aus, daß Toleranz und insbesondere oral induzierte  
5 Toleranz mit bestimmten Cytokinmustern zusammenhängt. Dies  
Cytokinmuster lassen wiederum auf verschiedenen T-Helferzellpopulationen  
schließen. Man unterscheidet Th1-, Th2- und neuerdings auch Th3-Zellen.  
So wird im allgemeinen angenommen, daß Autoimmunität hauptsächlich  
von Th1-Zellen und Toleranz mehr von Th2-Zellen dominiert ist. Allerdings  
10 konnte gezeigt werden, daß immunologische Toleranz im Tiermodell auch  
in Abwesenheit von funktionellen Th1- und Th2-Zellen aufrechterhalten  
werden kann.

Einige Fachleute gehen davon aus, daß bei hohen Dosen eines mukosal  
15 verabreichten Antigens autoreaktive T-Zellen, die das jeweilige Antigen  
erkennen, selektiv eliminiert werden (klonale Eliminierung) (Gutgemann,  
Fahrer et al. 1998). Bei der Anwendung niedriger Antigendosen geht diese  
Theorie von der Induktion regulatorischer T-Zellen aus, welche die  
pathologische Immunreaktion aktiv supprimieren (Bystander-Suppression).  
20 Diese ebenfalls antigenspezifischen T-Zellen werden dem Th2- oder auch  
Th3-Typ bzw. nicht näher charakterisierten T-Zellklassen zugeordnet  
(Weiner 1997; Mason und Powrie 1998; Seddon und Mason 1999). Die  
pathologische Situation wird dabei oft so definiert, daß sie im allgemeinen  
von Th1-T-Zellen verursacht wird. Eine weitere Theorie postuliert eine bisher  
25 nicht näher charakterisierte, von einem direkten Kontakt zwischen einzelnen  
T-Zellen abhängigen Regulation, als möglichen Mechanismus einen  
"Bystander-Suppression" (Tsitoura, DeKruyff et al. 1999). Wieder andere  
Hypothesen postulieren jeweils unterschiedliche Einflüsse verschiedener  
Cytokine oder von Cytokinen unabhängige Mechanismen der  
30 Toleranzinduktion (Segal und Shevach 1998; Lundin, Karlsson et al. 1999;  
Rizzo, Morawetz et al. 1999; Seddon und Mason 1999).

- 5 -

Im Rahmen der Theorie, welche auf der Gegenregulation zwischen Th1- und Th2/3-Cytokinen basiert, scheint das Cytokinmilieu, in dem die Immunreaktionen ablaufen von entscheidender Bedeutung bei der Induktion von aktiver Bystander-Suppression zu sein; d.h. die vorwiegende  
5 Proliferation von vermutlich protektiven Th2/3 T-Zellen kann nur in einem geeigneten Milieu stattfinden (Liblau, Tisch et al. 1997; Weiner 1997; Strobel und Mowat 1998).

Unter "Milieu" versteht man dabei in der Immunologie die  
10 Zusammensetzung verschiedener rein immunologischer Faktoren, welche die Richtung einer antigeninduzierten Immunreaktion bestimmen. Hormone und andere Faktoren die das Immunsystem beeinflussen, sind in diesem klassisch immunologischen Denkansatz allerdings nicht mit einbezogen.

15 Das Ziel bei der Entwicklung von neuartigen Substanzen bzw. Methoden ist, dieses Milieu zu optimieren. Dabei soll erstens die gewünschte Immunreaktion sicher und gezielt ablaufen können und zweitens die notwendige Menge des Antigens minimiert werden.

20 Nach derzeitigem Stand der Technik ist die therapeutische Induktion von Toleranz in fortgeschrittenen Stadien ein bisher unüberwindbares Problem, z.B. bei rheumatoider Arthritis. So scheint dieser neue Therapieansatz derzeit nur bei einer Krankheitsdauer von unter 2 Jahren erfolgreich zu sein. Danach erschweren vermutlich Mechanismen wie Epitop-Spreading und  
25 auch unspezifischen Entzündungsreaktionen orale Toleranzinduktion zu erschweren (Albani, UCSD, persönliche Mitteilung).

WO98/21951 (Haas et al.) offenbart allgemeine Verfahren zur oralen Toleranzinduktion, wobei ein Antigen mit einer derivatisierten Aminosäure  
30 als Adjuvans verwendet wird.

- 6 -

In US Patent Nr. 5,935,577 von Weiner et al. wurde versucht, die Toleranzinduktion durch die Verabreichung eines Bystander-Antigens in Kombination mit Methotrexat zu verbessern. Ein Ziel war es, die Menge des aufgrund seiner Toxizität mit schweren Nebenwirkungen behafteten Methotrexats zu verringern. Es ist jedoch nach heutiger Sicht  
5 wünschenswert, ganz auf Stoffe wie Methotrexat verzichten zu können, da Methotrexat eine kumulative Toxizität besitzt, d.h. ab einer gewissen Menge treten Leberschäden ein.

10 Es wurde auch versucht, eine Modifikation des immunologischen Milieus u.a. in Richtung eines vermutlich protektiven und die Proliferation regulatorischer Th-2/3 begünstigenden Milieus mittels verschiedener Hilfssubstanzen wie zum Beispiel Cytokinen bzw. Antikörper gegen Cytokine zu erzielen (Patent Nr. WO95/27500, WO98/16248).  
15 WO95/27500 offenbart ein Verfahren zur oralen Toleranzinduktion unter Verwendung eines Bystander-Antigens zusammen mit Cytokinen, insbesondere IL-4, welche das Immunsystem hin zu einer mehr durch T-Helfer-Zellen des Typs 2 (Th2) dominierten Antwort dirigieren. WO98/16248 verwendet Inhibitoren von IL-12 bei der oralen  
20 Toleranzinduktion.

Es gibt jedoch nur sehr wenig Studien, die versuchen, über körpereigene Mechanismen die immunologischen Vorgänge zu steuern, die für eine gezielte Toleranzinduktion notwendig sind.

25

Aufgrund komplexer Funktionen der Cytokine bei der Immunregulation und damit möglichen unkontrollierbaren Nebenwirkungen ist eine Manipulation von Cytokinen als Möglichkeit zur Optimierung von Immunreaktionen und damit zum klinischen Einsatz bei der Induktion von Toleranz allerdings  
30 hochproblematisch. Es hat sich gezeigt, daß Eingriffe in das Cytokinnetzwerk häufig von gefährlichen Nebenwirkungen und unkalkulierbaren Risiken begleitet werden. So hat die FDA jüngst darauf

- 7 -

hingewiesen, daß es bei der Verabreichung von TNF-Antikörpern im Rahmen einer Rheumatherapie bereits zu 10 Todesfällen gekommen ist, weil eine entzündliche Reaktion im Rahmen einer anderen Erkrankung als der Grunderkrankung Rheuma nicht mehr kontrollierbar und damit letal ablief.

5 Ähnliche Befürchtungen hat man auch bezüglich des Einsatzes von IL-12 neutralisierenden Antikörpern, bzw. bei IL-4 wegen bekannter Nebenwirkungen.

Ein weiterer Gesichtspunkt bei heutigen Therapiemethoden ist die Tatsache,  
10 daß orale Toleranzinduktion zum Teil Therapiezyklen umfaßt, bei denen das Antigen täglich über mehrere Wochen eingenommen werden muß. Es ist derzeit davon auszugehen, daß diese Zyklen mehrmals wiederholt werden müssen, da der Status der Toleranz unter Umständen die kontinuierliche Präsenz des Antigens erfordert, zumindest bis komplette Heilung eingetreten  
15 ist. Ob eine komplette Heilung möglich ist, kann aus den bisher veröffentlichten Daten nicht abgeleitet werden.

Die bisherigen Strategien zur Toleranzinduzierung beruhen meist auf einer Verabreichung von supraphysiologischen Mengen sowohl des Antigens als  
20 auch der Adjuvantien. Der Nachteil bei der Verwendung hoher Konzentrationen der eingesetzten Mittel sind hohe Kosten und teilweise schwerwiegende Nebenwirkungen, wie etwa bei Methotrexat.

Ein weiterer Nachteil der bisher durchgeführten und veröffentlichten Studien  
25 zur Toleranzinduktion ist, daß meist Tiermodelle verwendet werden, bei denen die Induktion von Toleranz dadurch gezeigt wird, daß in den behandelten Tieren die in Kontrolltieren auftretenden Krankheit erst gar nicht ausgelöst wird. Von viel größerer Bedeutung sind jedoch Mittel, die in der Lage sind, auch in die bereits bestehende Krankheit einzugreifen.

30 Glucocorticoide sind bekannt für ihre anti-inflammatorischen (entzündungshemmenden) und immunsuppressiven Eigenschaften (Cupps



- 8 -

und Fauci 1982; Chrousos 1995; Marx 1995; Almawi, Beyhum et al. 1996, Wilckens und Derijk, 1997). Sie werden daher bevorzugt zur Behandlung von Entzündungskrankheiten und auch zur Behandlung von Autoimmunkrankheiten eingesetzt.

5

Es ist seit längerem bekannt, daß Glucocorticoide (GCs) in der Lage sind, die Produktion von bestimmten Cytokinen herabzuregulieren. Die antiinflammatorische Wirkung von Glucocorticoiden beruht neben ihrer Fähigkeit zur Inhibition von Interleukin-2 (IL-2) und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) auf der Herabregulierung von IL-1, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und IL-6. Die GC-Konzentrationen in den Geweben und im Plasma wird wiederum über mehrere Mechanismen reguliert, nämlich durch Cytokine, GC-Rezeptor-Expression und durch bestimmte Enzyme, z.B. die 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11- $\beta$ -HSD; Hult, Jornvall et al. 1998; Krozowski 1999; Stewart und Krozowski 1999).

15

Während sich im Rahmen der Forschung zur Toleranzinduktion ein umfangreiches Wissen zur Rolle z.B. von Cytokinen angesammelt hat, ist über den Einfluß von Steroidhormonen im allgemeinen und von Glucocorticoiden im speziellen nur wenig oder nichts bekannt. Interessanterweise wurde aber nachgewiesen, daß Östrogene, die in Ihrer Wirkung auf das Immunsystem als immunsuppressiv eingestuft werden (Jansson und Holmdahl 1998), die Induktion von Toleranz verhindern (Mowat, Lamont et al. 1988). Dies ist insofern besonders bemerkenswert, als Östrogene per se eine Th2-Immunantwort fördern, welche in manchen Systemen orale Toleranz unterstützen soll (Weiner 1997). Die Kombination von jeweils allein verabreichten inaktiven bzw. suboptimalen Konzentrationen von Östrogenen zusammen mit Glucocorticoiden bewirkt eine synergistische Immunsuppression (Carlsten, Verdrengh et al. 1996). Daraus wird im allgemeinen gefolgert, daß auch Glucocortikoide die Toleranzinduktion hemmen.

30

- 9 -

Über den Einfluß von Glucocorticoiden auf die Toleranzinduktion existieren keine publizierten Daten. Allerdings wurde im Rahmen einer präklinischen Phase I Studie an der Universität San Diego/Californien festgestellt, daß eine Glucocorticoidtherapie einem Therapieversuch zur Induktion von oraler Toleranz entgegensteht. Dies spiegelt sich auch in der Tatsache wieder, daß mit Glucocorticoiden behandelte Patienten von klinischen Studien zur Toleranzinduktion bei Autoimmunerkrankungen generell ausgeschlossen werden. Die Verabreichung sogar niedriger Steroidkonzentrationen blockiert die aktive Induktion von Toleranz. (S. Albani, University of California, San Diego und H. Weiner, Harvard University, Boston, persönliche Mitteilungen, (Weiner 1997; Bonnin und Albani 1998)).

Zwar kann es unter dem Einfluß von Glucocorticoiden unter bestimmten Voraussetzungen zu einer Shift des Cytokinmusters in Richtung eines Th2-ähnlichen Cytokinprofiles kommen. Letzteres ist aber als Therapie eines Autoimmunprozesses auch im Rahmen von Maßnahmen zur Induktion von Toleranz nicht ausreichend. Sowohl die Applikation von Th2-Cytokinen, als auch der Transfer von Th2-Zellen kann eine Autoimmunreaktion nicht komplett verhindern (Mason und Powrie 1998; Segal und Shevach 1998). Des weiteren wurde in einer jüngsten Studie nachgewiesen, daß eine Hemmung der 11- $\beta$ -HSD ebenso wie Glucocorticoidinjektion zur Abtötung unreifer T-Zellen im Thymus führt (Gruber, Sgontz et al. 1994; Horigome, Horigome et al. 1999). Es ist bekannt, daß Glucocorticoide auf periphere T-Zellen und auf undifferenzierte, naive und unreife T-Zellen eine ähnliche Wirkung haben (Cupps und Fauci 1982). Die Induktion von Toleranz propagiert dagegen u.a. die Aktivierung und Proliferation dieser unreifen T-Zellen, während Gedächtniszellen anscheinend nicht tolerisiert werden können (Chung, Chang et al. 1999). Zusätzlich wird angenommen, daß Glucocorticoide die Antigenpräsentation hemmen (Piemonti, Monti et al. 1999; Piemonti, Monti et al. 1999), was einer Unterstützung von Toleranzinduktion per Definition zusätzlich entgegensteht.

- 10 -

Immunologische Therapiemethoden scheitern derzeit somit an der mangelhaften Steuermöglichkeit der Immunreaktion und auch an den Kosten, da sehr hohe Mengen sowohl an Protein-, Peptidantigen als auch DNA zum Einsatz kommen müssen, um relevante klinische Effekte beim Menschen zu induzieren. Während an der Identifikation möglicher Antigene beachtliche Fortschritte erzielt wurden, stehen für den Einsatz beim Menschen derzeit keine geeigneten Methoden zur Verfügung, die sich für einen Langzeiteinsatz eignen. Immunologische Ansätze scheinen derzeit aufgrund unkontrollierbarer Nebenwirkungen wenig erfolgversprechend.

Der vorliegenden Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, die Toleranzinduktion durch die Verabreichung von bestimmten Antigenen in Kombination mit einem neuen Adjuvans zu verbessern und/oder zu optimieren.

Diese Aufgabe wird gelöst durch ein neues Arzneimittel umfassend als Wirkstoff Inhibitoren der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Kombination mit einem oder mehreren Antigenen und die Verwendung des Arzneimittels zur Induktion von Toleranz.

Die 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11- $\beta$ -HSD) ist ein Enzym, welches für die Interkonvertierung von biologisch aktiven Formen von Glucocorticoiden in und aus ihren inaktiven Formen verantwortlich ist. Überraschenderweise wurde gefunden, daß Inhibitoren von Enzymen, welche den Cortisolmetabolismus regulieren, insbesondere Inhibitoren der 11- $\beta$ -HSD in Kombination mit einem Antigen in der Lage sind, Toleranz zu induzieren. Eine besonders vorteilhafte Wirkung wird dabei in Kombination mit mindestens einem Antigen erzielt.

Dies ist insofern unerwartet, als allgemein bekannt ist, daß eine Steigerung des Cortisolspiegels im Plasma (z.B. bei der Verabreichung von Glucocorticoiden) eine immunsupprimierende Wirkung hat. Man muß jedoch

- 11 -

unterscheiden zwischen der Cortisolkonzentration im Blutplasma, die sich systemisch auswirkt und einer möglicherweise auf nur ganz bestimmte Zellen oder Gewebe beschränkten Erhöhung des Cortisolspiegels. Bei einer Inhibition der 11- $\beta$ -HSD kommen anscheinend andere Mechanismen zum tragen als diejenigen, die das Ergebnis einer systemischen Cortisolverabreichung sind. Offenbar bewirkt eine Hemmung der 11- $\beta$ -HSD eine Immunstimulierung hin zur Toleranzinduktion, möglicherweise durch die Aktivierung von Suppressor-T-Zellen.

11- $\beta$ -HSD ist ein Mitglied der kurzkettigen Dehydrogenasen/Reduktasen (SDR; short chain dehydrogenases/reductases). Mitglieder der SDR-Familie umfassen typischerweise etwa 250 Aminosäuren und haben ein N-terminales Coenzym-Bindemuster (typischerweise GXXXGXG) und eine aktive Bindestelle mit der Sequenz YXXXX. Die SDR-Familie ist hoch divergent mit einer typischen Identitätsübereinstimmung von 15 bis 30 % zwischen den einzelnen Mitgliedern. Die Enzyme der SDR-Familie umfassen ein breites Spektrum von spezifischen Substraten, einschließlich Steroide, Alkohole und aromatische Verbindungen (Jornvall et al., 1999; Oppermann et al., 1996).

11- $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase ist das Schlüsselenzym bei der extrahepatischen Überführung von 11- $\beta$ -Hydroxysteroiden, wie etwa Cortisol und Prenison in ihre inaktiven Metaboliten. Bei 11- $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase handelt es sich um ein bidirektionales Enzym, welches in Abhängigkeit der Umgebung bzw. der Isoform eine Reduktase- oder/und eine Dehydrogenaseaktivität aufweist. Die Reduktaseaktivität von 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase überführt ein 11-Ketosteroid, beispielsweise das inaktive Cortison, in ein 11- $\beta$ -Hydroxysteroid, beispielsweise das aktive Cortisol. Die Dehydrogenaseaktivität überführt das 11- $\beta$ -Hydroxysteroid in das 11-Ketosteroid.

- 12 -

Es existieren verschiedene Isoformen von 11- $\beta$ -HSD. Beispielsweise ist 11- $\beta$ -HSD Typ 1 ein bidirektionales Enzym, welches in vivo hauptsächlich als Reduktase wirkt. 11- $\beta$ -HSD Typ 2 hingegen ist in vivo ein unidirektionales Enzym und wirkt ausschließlich als NAD-abhängige Dehydrogenase. Der  
5 hierin verwendete Inhibitor der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase ist bevorzugt ein Inhibitor für die Reduktaseaktivität und besonders bevorzugt ein Inhibitor von 11- $\beta$ -HSD-1.

Das erfindungsgemäße Arzneimittel enthält als Wirkstoff eine Kombination  
10 von zwei oder mehr Substanzen, welche sowohl als Gemisch oder Formulierung, als auch getrennt, z.B. als Kit vorliegen können.

Zum einen enthält das Arzneimittel ein oder mehrere Antigene, welche zum Auslösen einer spezifischen immunologischen Toleranzreaktion dienen.

15 Als derartige Antigene eignen sich alle Stoffe, die unerwünschte Immunreaktionen hervorrufen, wie etwa solche, die mit Autoimmunkrankheiten assoziiert sind, z.B. Rheumatoide Arthritis einschließlich juveniler Formen, Lupus Erythemadotes, Multiple Sklerose,  
20 Uveitis, Diabetes Typ I (Autoimmundiabetes), sowie solche, die mit Allergien oder/und Asthma assoziiert sind.

Als Antigene können aber auch Stoffe eingesetzt werden, die eine Infektion bewirken, wobei durch das erfindungsgemäße Arzneimittel eine Toleranz  
25 induziert werden kann, die nachteilige oder pathologische Reaktionen auf den infektiösen Erreger vermindern oder beseitigen kann. Beispiele für infektiöse Krankheitserreger sind beispielsweise Bakterien, Viren oder andere Mikroorganismen. Das erfindungsgemäße Arzneimittel kann spezifische Epitope oder Antigene solcher infektiöser Krankheitserreger umfassen, es  
30 ist aber auch möglich, den gesamten Mikroorganismus oder Teile davon zu verwenden.

- 13 -

Üblicherweise wird bei einer klassischen Impfung ein Pathogen dem Patienten intravenös verabreicht, wodurch eine schützende Immunität hervorgerufen wird. Es wurde nun aber festgestellt, dass ein Impfschutz nicht nur auf herkömmliche Weise, sondern auch durch eine  
5 Toleranzinduktion durch mukosale Verabreichung von Antigenen erzielt werden kann (McSorley, 1999). Durch die erfindungsgemäße Arzneimittelkombination wird eine solche Wirkung noch verstärkt, sodass eine Kombination aus 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor und Antigen vorteilhaft als tolerogenes orales Vaccin eingesetzt werden kann.

10 Überraschenderweise wurde festgestellt, dass die Induktion von Toleranz eine vorteilhafte Wirkung auf eine anschließende Infektion nicht nur bei Autoimmunerkrankungen sondern auch bei infektiösen Erkrankungen hat. So konnte festgestellt werden, dass durch Induzieren einer Toleranz  
15 Infektionen aufgelöst werden konnten. Es wird vermutet, dass folgender Wirkmechanismus einem Impfschutz durch Toleranzinduktion zugrundeliegt: Viele infektiöse Erreger umfassen mehrere Antigene, wobei offensichtlich einige dieser Antigene eine Überreaktion des Wirts hervorrufen. Diese Überreaktion kann beispielsweise eine Überführung von T-Zellen in Th2-  
20 Zellen bewirken, wobei Th2-Zellen das eindringende Pathogen nicht bekämpfen können. Bei einer infektiösen Erkrankung bewirken nun solche Antigene, dass das Immunsystem des Wirts in schädlicher Weise überreagiert, während es gleichzeitig den infektiösen Erreger nicht wirksam bekämpft. Durch Induzieren einer Toleranz, beispielsweise durch mukosale  
25 Verabreichung des Antigens und gleichzeitige Verabreichung eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors kann die nachteilige Wirkung der eine Überreaktion hervorrufenden Antigene ausgeschaltet werden, sodass der Rest des Immunsystems seiner Schutzfunktion nachkommen kann. Bei der Toleranzinduktion zum Schutz vor oder zur Heilung von infektiösen  
30 Erkrankungen ist es üblicherweise bevorzugt, eine Th1-artige Reaktion zu fördern und eine Th2-artige Reaktion auszuschalten. Entsprechend wird

- 14 -

vorteilhafterweise eine Toleranz für Antigene erzeugt, die eine Th2-artige Reaktion hervorrufen.

Grundsätzlich ist es möglich, durch geeignete Auswahl des Antigens gemäß  
5 der hierin gegebenen Anleitung einen Impfschutz durch Toleranzinduktion  
für praktisch alle infektiösen Erkrankungen bereitzustellen. Bevorzugt wird  
ein Antigen ausgewählt, das mit einer bakteriellen oder viralen Infektion  
assoziiert ist, beispielsweise Grippe, Leishmania, Pilzinfektionen,  
Cytomegalie, Pneumonie, Streptokokken B, Chlamydien, Helicobakter,  
10 Hepatitis C, Herpes, Human Papilloma Virus, Mycobacterien Tuberculosis  
und anderen.

Das erfindungsgemäß eingesetzte Antigen kann dabei bevorzugt ein  
natürliches oder synthetisches Protein, Proteinbestandteil oder Peptid sein,  
15 insbesondere auch ein sogenannter Altered Peptide Ligand (APL), aber  
Kohlenhydrate einschließlich Polysaccharide und Lipopolysaccharide sind  
ebenfalls geeignet, sowie Antigene aus biologischen Ressourcen. Letztere  
umfassen Antigene welche bei der Entstehung und/oder Heilung von  
Autoimmunerkrankungen, Allergien, oder erwünschten und unerwünschten  
20 Immunreaktion im Rahmen der Transplantationsmedizin eine Rolle spielen. Die  
Toleranzinduktion, die erfindungsgemäß bewirkt wird, kann somit auch bei  
Transplantationen vorteilhaft sein.

Das Antigen kann dabei eines sein, gegen welches direkt eine  
25 Immunantwort erzeugt wird. Es kann aber auch ein sogenanntes Bystander-  
Antigen sein, welches eine (Auto)immunreaktion gegen auf einem Protein  
benachbarte oder verwandte Epitope hervorruft.

Altered Peptide Ligands (APLs) sind Peptide, welche im wesentlichen einem  
30 Antigen entsprechen, gegen welches eine Immunreaktion ausgelöst wird.  
Allerdings wurden APLs einzelne Aminosäuren ausgetauscht. Man hat

- 15 -

festgestellt, daß bei der Gabe von APLs im Rahmen einer oralen Toleranzinduktion kein oder wenig zusätzliches Adjuvans notwendig ist.

Im Bereich Allergieprävention können prinzipiell alle nicht toxischen Umweltantigene als erfindungsgemäß geeignete Antigene zum Einsatz kommen. Bevorzugt sind Benzylpenicilloyl, Insulin, Ovalbumin, Lactalbumin, aber auch diverse Pollen, Nahrungsmittelantigene, Hausstaubmilben und deren Bestandteile, deren Exkremente und dgl.

Weitere geeignete Antigene umfassen körpereigene und andere Heat Shock Proteine (Prakken et al. (1997); Prakken et al. (1998)), Thyroglobulin, Zellbestandteile der Uvea, der Haut, verschiedener Epithelien, der Schilddrüse, der Basalmembran, der Muskeln, der Myelinscheiden, der Nervenzellen, des Thymus, roter Blutkörperchen, weiterer Blutbestandteile und -zellen, Proteolipid, Myelin-basisches Protein (MBP), Myelin-Oligodendrozyten-Glycoprotein (MOG), oder andere Bestandteile normalen oder erkrankten Körpergewebes.

Bevorzugt ist weiterhin eine Kombination, welche einen Impfstoff gemäß Rock et al. (2000) umfasst, insbesondere ein bakterielles Vakzin.

Das Antigen kann im erfindungsgemäßen Arzneimittel auch als Nukleinsäure oder Oligonukleotid vorliegen. Dabei kann die Nukleinsäure oder das Oligonukleotid einerseits selbst das Antigen darstellen. Andererseits kann die Nukleinsäure für ein bestimmtes Peptidantigen kodieren. Sie kann über verschiedene Verabreichungsrouten gegeben werden, z.B. durch Injektion, intravenös, intramuskulär, subkutan oder mit Hilfe der Gen-Pistole.

Die Antigenpräsentation kann bevorzugt auch durch dendritische Zellen erfolgen. Dendritische Zellen sind die wichtigsten Zellen im Immunsystem zur Präsentation von körpereigenen und fremden Antigenen. Sie sind deshalb sehr potente Stimulatoren einer Immunreaktion.



- 16 -

Dendritische Zellen können beispielsweise aus Monocyten oder Knochenmarkszellen auf im Stand der Technik bekannte Weise gezüchtet werden (D. Rea et al. (2000); E. Dejong et al. (1999); M. Mathiszak et al. (2000)). Dendritische Zellen können zur antigenspezifischen Immuntherapie eingesetzt werden (Fairchild et al. (2000); Reid et al. (2000); Kapsenberg et al. (1998)). Hierzu werden sie entweder in vitro mit dem gewünschten Antigen gepulst, d.h. mit dem Antigen inkubiert, bis sie es aufgenommen haben und an der Oberfläche exprimieren. Dendritische Zellen können aber auch per Gentransfer zur Expression des jeweiligen Antigens angeregt werden, wodurch sie es selbst produzieren. Darüber hinaus ist es möglich, auch bereits durch Antigen beladene Zellen ex vivo zur Proliferation anzuregen und dann in den Körper zu reinjizieren. Besonders bevorzugt erfolgt die Antigenpräsentation mittels dendritischer Zellen erfindungsgemäß dadurch, daß dendritische Zellen in vitro unter Beigabe von Glucocorticoiden, beispielsweise von Cortison in das Medium zu einem Toleranz-induzierenden Phenotyp gereift und dann reinfundiert werden. Mit diesen dendritischen Zellen kann dann ein 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor kombiniert werden, um den Effekt weiter zu unterstützen. Durch Behandlung von dendritischen Zellen mit Glucocorticoiden, beispielsweise mit Cortison, kann neben der bei einer Antigenpräsentation durch dendritische Zellen üblicherweise auftretenden Erhöhung der Immunantwort überraschenderweise die Toleranz erhöht werden.

Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß durch die erfindungsgemäße Kombination eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors mit den Antigen präsentierenden dendritischen Zellen im Lymphknoten in Milieu geschaffen wird, in welchem die dendritischen Zellen stabiler sind.

Neben einer gentechnischen Veränderung von dendritischen Zellen zur Expressierung von gewünschten Antigenen ist es auch möglich, dendritische Zellen mit dem gewünschten Antigen aus an der entsprechenden Erkrankung erkrankten Patienten zu isolieren.

- 17 -

Bevorzugt werden artificielle antigen-präsentierende Zellen oder/und artificielle dendritische Zellen zur Antigenpräsentation eingesetzt (Falcioni et al. (1999); Latouche et al. (2000); Wu et al. (2000)).

- 5 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Antigenpräsentation durch T-Zellen. Regulatorische oder/und Antigen-spezifische T-Zellen können beispielsweise in vitro generiert werden (Ramirez et al. (2000); Shevach (2000)). Dabei wird das Antigen durch T-Zellen präsentiert oder/und es können durch regulatorische T-Zellen Antigen-spezifische T-Zellen beeinflusst werden.
- 10

Als Inhibitoren der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase kommen grundsätzlich alle bisher bekannten, aber auch gegebenenfalls noch nicht identifizierte Inhibitoren in Frage.

- 15 Die Hemmstoffe inhibieren bevorzugt alle Isoformen der 11- $\beta$ -HSD, insbesondere jedoch die 11- $\beta$ -HSD-1, weiterhin bevorzugt zusätzlich weitere Isoformen, sowie gewebespezifische Isoformen. Eine noch nicht eindeutig identifizierte Isoform, welche ebenfalls bevorzugt gehemmt wird, ist die 11- $\beta$ -HSD-3.
- 20

- Bevorzugt werden die Inhibitoren ausgewählt aus endogenen und exogenen Hemmsubstanzen. Beispiele für endogene Hemmsubstanzen sind die folgenden: Substrate für die 11- $\beta$ -HSD, wie etwa 11-OH-Progesteron, 3- $\alpha$ ,5- $\beta$ -Tetrahydroprogesteron, 3- $\alpha$ ,5- $\beta$ -Tetrahydro-11-deoxycorticosteron, 11-Epicortisol, Chenodeoxycholsäure, Cholsäure. Beispiele für exogene Hemmsubstanzen sind Glycyrrhetinsäure (3 $\beta$ -Hydroxy-11-oxoolean-12-en-30-säure) und Derivate davon, wie etwa Glycyrrhizin, Glycyrrhizinsäure und Carbenoxolon; Furosemid und Derivate davon;
- 25
- 30 Flavonoide und Derivate davon, wie etwa Naringenin; Triterpinoide (z.B. CHAPS), Ketokonazol, Saiboku-To, Gossypol, Metyrapon, 11-Epiprednisolon. Weitere geeignete Inhibitoren sind steroidähnliche, wie etwa

- 18 -

Dexamethason, Budesonid, Deflazacort und Stanazolol. Nicht identifizierte Derivate werden unter den ACTH-abhängigen Inhibitoren vermutet.

5 Besonders bevorzugt sind Glycyrrhetinsäure und Derivate, insbesondere Glycyrrhizinsäure, Glycyrrhizin, Glycyrrhitinsäure und Derivate davon, und insbesondere Carbenoxolon.

10 Glycyrrhetinsäure (GA) ist ein Extrakt aus Süßholz (*Glycyrrhiza glabra*) und hemmt den Metabolismus endogener Glucocorticoide durch eine Blockade des Enzyms 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase.

15 Carbenoxolon ist ein Derivat der GA, welches eine höhere Affinität für 11- $\beta$ -HSD aufweist (Hult, Jornvall et al. 1998). Carbenoxolon ist ebenso wie GA bezüglich der Pharmakokinetik, Toxizität und möglicher Dosierungsschemata bzw. Applikationsmöglichkeiten beim Menschen in einer Vielzahl von Studien untersucht worden und bereits für den Einsatz am Menschen zugelassen, mögliche Nebenwirkungen sind nicht zu erwarten, bzw. ungefährlich und reversibel (Ulick, Wang et al. 1993; Bernardi, D'Intino et al. 1994; Krahenbuhl, Hasler et al. 1994; Schambelan 1994).

20 Als Inhibitoren für 11- $\beta$ -HSD können auch Antikörper gegen 11- $\beta$ -HSD oder Fragmente davon eingesetzt werden. Solche Antikörper gegen 11- $\beta$ -HSD können auf dem Fachmann bekannte Weise z.B. als monoklonale oder polyklonale Antikörper hergestellt werden. Weiterhin umfaßt der Begriff  
25 Inhibitor von 11- $\beta$ -HSD, wie hierin verwendet, auch Stoffe, die die Transkription von 11- $\beta$ -HSD regulieren.

Durch Verwendung solcher Transkriptionsregulatoren kann die Menge an im Körper verfügbaren 11- $\beta$ -HSD gesteuert werden. Geeignete  
30 Transkriptionsregulatoren für 11- $\beta$ -HSD sind beispielsweise bei Williams et al. (2000) beschrieben und umfassen insbesondere Mitglieder der C/EBP-Familie.

- 19 -

Weiterhin ist es bevorzugt, das Antigen oder/und den 11- $\beta$ -HSD-Modulator, insbesondere Inhibitor aus niedermolekularen Substanzen auszuwählen, die bevorzugt ein Molekulargewicht von  $\leq 500$  Da, mehr bevorzugt von  $\leq 250$  Da aufweisen.

5

Die genannten Hemmstoffe der 11- $\beta$ -HSD, insbesondere Glycyrrhetinsäure und ihre Derivate, sind selbst in höheren Dosen untoxisch und haben keine schwerwiegenden Nebenwirkungen. Der therapeutische Einsatz von GA oder ähnlichen Hemmsubstanzen der 11- $\beta$ -HSD ist *ad hoc* möglich. Die  
10 Kombination einer Hemmsubstanz/Methode zur Inhibition der 11- $\beta$ -HSD mit einem Antigen stellt somit einen neuen therapeutischen Zugang zur Heilung diverser immunologischer Erkrankungen dar.

Mögliche Dosierungen der Inhibitoren, insbesondere von GA und Derivaten,  
15 betragen beim Menschen bis zu 1 g pro Dosiseinheit.

Die Inhibitoren werden bevorzugt in einer Menge von mindestens 0,01, bevorzugt mindestens 0,1 und besonders bevorzugt mindestens 1 mg/kg Körpergewicht und Tag und bis zu 100, bevorzugt bis zu 50, besonders  
20 bevorzugt bis zu 10 mg/kg pro Tag verabreicht. Als Inhibitor der 11- $\beta$ -HSD wird eine Verbindung angesehen, die die in vivo 11- $\beta$ -HSD-Aktivität um mindestens 10 %, bevorzugt mindestens 30 %, mehr bevorzugt mindestens 50 %, besonders bevorzugt mindestens 70 % und am meisten bevorzugt mindestens 80 % inhibiert. Es kann aber vorteilhaft sein, Stoffe zu  
25 verwenden, die die in vivo 11- $\beta$ -HSD-Aktivität um mindestens 90 %, bevorzugt um mindestens 95 % inhibieren. Die Inhibitoren weisen bevorzugt  $IC_{50}$ -Werte, wie in plazentalen Mikrosomen oder MCF-7-Zellen bestimmt von  $< 100 \mu M$ , bevorzugt  $< 30 \mu M$ , besonders bevorzugt  $< 1 \mu M$  auf. Besonders potente Inhibitoren weisen  $IC_{50}$ -Werte von  $< 100$  nM, bevorzugt  
30  $< 10$  nM und besonders bevorzugt  $< 1$  nM auf.

- 20 -

Die  $K_i$ -Werte der erfindungsgemäß eingesetzten Inhibitoren sind bevorzugt  $< 1200 \mu\text{M}$ , mehr bevorzugt  $< 100 \mu\text{M}$  und besonders bevorzugt  $< 1 \mu\text{M}$ . Mögliche Dosierungen der Inhibitoren, insbesondere von GA und Derivaten, betragen beim Menschen bis zu 1 g pro Dosiseinheit.

5

Außer der Verwendung der genannten Inhibitoren ist es auch möglich und im Sinne der Erfindung, als Inhibitor eine Antisense-Nukleinsäure zu verwenden, welche mit Sequenzen hybridisiert, die für 11- $\beta$ -HSD kodieren. Das kann insbesondere dann von Vorteil sein, wenn eine 11- $\beta$ -HSD in einem bestimmten Gewebe spezifisch gehemmt werden soll.

10

Das Gewichtsverhältnis der Bestandteile Inhibitor und Antigen beträgt bevorzugt 0,1 zu 99,9 bis 99,9 zu 0,1, besonders bevorzugt 90 zu 10 bis 10 zu 90.

15

Das Arzneimittel der Erfindung kann als Gemisch oder Formulierung der beiden Komponenten Antigen(e) und Inhibitor vorliegen. Bevorzugt werden die beiden Bestandteile jedoch nicht als eine Formulierung, sondern getrennt verabreicht. Zusätzlich kann das Arzneimittel bzw. die beiden Wirkstoffkomponenten pharmazeutisch annehmbare Hilfs- und/oder Zusatzstoffe (z.B. geeignete Lösungs- oder Verdünnungsmittel) und/oder Adjuvantien enthalten. Diese können vom Fachmann auf dem Gebiet leicht ermittelt werden.

20

25 Es bestand weiterhin ein Bedarf, Mittel bereitzustellen, mit denen Immunreaktionen, insbesondere Autoimmunerkrankungen positiv beeinflusst werden können. Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist deshalb die Verwendung einer 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zur Gewinnung eines Arzneimittels zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation. Überraschenderweise ist festgestellt worden, daß durch Beeinflussung der 11- $\beta$ -HSD als Vertreter der SDR-Familie Immunerkrankungen und insbesondere

30

- 21 -

Autoimmunerkrankungen positiv beeinflusst werden können. Darüber hinaus können unter Verwendung von 11- $\beta$ -HSD Allergien, Transplantatabstoßung und GVHD therapeutisch oder/und prophylaktisch behandelt werden. Als immunmodulatorische Substanz können insbesondere Modulatoren, wie  
5 etwa Inhibitoren oder Promotoren von 11- $\beta$ -HSD eingesetzt werden, um eine Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation, insbesondere zur Bekämpfung von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Transplantatabstoßung oder/und GVHD zu bewirken. Als geeignete immunmodulatorische Substanzen können bekannte Inhibitoren von 11- $\beta$ -  
10 HSD eingesetzt werden oder Substanzen, die eine Wechselwirkung mit 11- $\beta$ -HSD eingehen und beispielsweise durch Screening oder computerunterstützte Methoden, wie etwa Kraftfeldrechnungen aufgefunden werden. Darüber hinaus ist es möglich, Substanzen zu verwenden, die als Inhibitoren von anderen Mitgliedern der SDR-Familie  
15 bekannt sind und diese Substanzen durch einfache Versuche auf ihre Wechselwirkung mit 11- $\beta$ -HSD zu testen. Im Gegensatz zu der bisher beschriebenen immunsuppressiven Wirkung von 11- $\beta$ -HSD-Modulatoren wurde überraschenderweise gefunden, daß bereits bei alleiniger Verwendung von 11- $\beta$ -HSD-Modulatoren, insbesondere von Inhibitoren die  
20 oben angegebenen Wirkungen erhalten werden können.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung eines Inhibitors der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zur Herstellung eines Arzneimittels zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und  
25 Immunmodulation. Überraschenderweise wurde festgestellt, daß bereits durch die Verwendung eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors nicht eine immunsuppressive Wirkung sondern eine Toleranzinduktion, Immunmodulation oder/und Entzündungshemmung erzielt werden kann. Ein Inhibitor der 11- $\beta$ -HSD kann allgemein zur Entzündungshemmung bei akuten  
30 oder/und chronischen Entzündungsprozessen, einschließlich septischem Schock und Sepsis eingesetzt werden. Vorteilhafte Wirkungen wurden sowohl bei infektiösen als auch nicht-infektiösen Entzündungen beobachtet.

- 22 -

Bevorzugt ist die Verwendung des erfindungsgemäßen Arzneimittels, insbesondere der Kombination aus Hemmstoff der 11- $\beta$ -HSD mit einem oder mehreren Antigenen zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation in einem Säugetier, insbesondere dem Menschen.

5 Anwendungsgebiete liegen im Bereich der Autoimmunkrankheiten, z.B. Rheumatoide Arthritis, einschließlich juveniler Formen, Lupus Erythematoses, Multiple Sklerose, Uveitis, Diabetes Typ I, sowie bei Allergien und der Transplantationsmedizin, insbesondere Transplantatabstoßung und GVHD.

10

Die Toleranzinduktion kann aber auch bei der Immunisierung gegen Infektionserreger eingesetzt werden, wie oben ausgeführt.

Die Verabreichung des Arzneimittels kann über verschiedene Wege erfolgen.

15 Es ist möglich, den/die Inhibitoren des 11- $\beta$ -HSD, bevorzugt zusammen mit dem/den Antigenen und gegebenenfalls zusätzlichen Adjuvantien zu verabreichen, wobei die genannten Komponenten als Formulierung vorliegen können. Die beiden Wirkstoffkomponenten und die gegebenenfalls zusätzlichen Hilfsstoffe oder Adjuvantien können aber auch über  
20 unterschiedliche Verabreichungsrouten gegeben werden. Möglich sind einerseits mukosale Routen, z.B. intranasal, oral, sublingual oder durch Inhalation, aber auch weitere, wie etwa intravenös, subkutan, intramuskulär und intraperitoneal. Weiterhin kommt bei der Verabreichung von Nukleinsäuren die Gen-Pistole in Betracht.

25

Zur Präsentation des Antigens kommen insbesondere folgende Applikationsmöglichkeiten in Betracht: die sogenannte mukosale, d.h. orale oder nasale Toleranzinduktion und neuerdings durch Gabe von DNA (Ragno, Colston et al. 1997; Lee, Corr et al. 1998; Lobell, Weissert et al. 1999; McCluskie und Davis 1999; McCluskie, Millan et al. 1999), welche für das  
30 betreffende Antigen codiert und in den zu behandelnden Organismus, z.B. einen Menschen, injiziert wird.

- 23 -

Daneben kann die Antigenpräsentation auch mittels dendritischer Zellen oder T-Zellen, wie oben beschrieben, erfolgen.

Bevorzugt wird das erfindungsgemäße Mittel zur mukosalen Toleranzinduktion eingesetzt. Dabei bedeutet mukosal die Aufnahme über Schleimhäute und umfaßt die Verabreichung eines Antigens unter anderem durch orale Einnahme oder Instillation in die Nase, bzw. Inhalation und Resorption über die Lunge. Die Verabreichung kann aber auch subkutan, intravenös und/oder intramuskulär erfolgen.

Inhibitor und Antigen können gemeinsam oder getrennt über verschiedene Routen und auch zeitlich versetzt verabreicht werden.

Eine besonders vorteilhafte Darreichungsform stellt eine Kapsel dar, die außen aus einem 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor, z.B. Glycyrrhizinsäure oder Glycyrrhetinsäure besteht, welche innen ein Antigen umschließt.

Der Inhibitor kann über alle bekannten Routen verabreicht werden und wird dazu jeweils in die entsprechende Form gebracht, z.B. für die Injektion in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst. Dabei ist es auch möglich, zuerst den Inhibitor, z.B. durch Injektion intravenös, intramuskulär oder subkutan, und dann das oder die Antigene über mukosale Routen zu verabreichen. Es kann von Vorteil sein, den Inhibitor in mehrmaliger Dosis zu geben.

Die Erfindung wird durch die beigefügten Figuren und die nachfolgenden Beispiele weiter erläutert.

Figur 1 zeigt den Verlauf einer experimentell induzierten Arthritis ohne (blau) oder mit (rot) Behandlung durch einen 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor. Der Inhibitor, hier Glycyrrhetinsäure (GRA) wurde an den Tagen 0, 2 und 4 nach Injektion des vollständigen Freund'schen Adjuvans (CFA) in einer Dosierung von 2 mg in 200  $\mu$ l Olivenöl intradermal an der Basis in den Schwanz von



- 24 -

Ratten injiziert. CFA wurde in einer Dosis von 0,4 mg intradermal verabreicht. Die Kombination aus Inhibitor und Antigen (im CFA als Mycobacterium t. enthalten) führt zu einem abgeschwächten Krankheitsverlauf, wirkt also immunmodulatorisch.

5

Figur 2 zeigt die verstärkende Wirkung eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors auf die nasale Toleranzinduktion mittels eines Peptidantigens. Dabei wurde das Peptid 176 bis 190 (Prakken et al. (1997)) an den Tagen -15, -11, -7 und -3 intranasal vor Induktion des Krankheitsschubs in 3 %-iger Natriumbicarbonatlösung verabreicht. GRA intranasal wurde in einer Dosis von 0,5 mg in 25  $\mu$ l pro Nasenloch, d.h. insgesamt in einer Menge von 1 mg zugegeben. Die rote Kurve zeigt eine Kontrollgruppe. Die blaue Kurve zeigt den Krankheitsverlauf unter Peptidbehandlung (Antigen) ohne Zugabe von GRA. Die gelbe Kurve zeigt die erfindungsgemäße Kombination aus Peptid (Antigen) und GRA, welche intranasal verabreicht wurden.

15

### Beispiele

#### Verstärkung der Toleranzinduktion im Modell der Adjuvans-induzierten Arthritis

20

Dieses Tiermodell, bei dem eine arthritisaartige Autoimmunkrankheit induziert werden kann, ist im Stand der Technik bekannt (Leech, Metz et al. 1998; Prakken, Wauben et al. 1998; Vaneden, Vanderzee et al. 1998):

25

Dabei wird Ratten eine Suspension aus Öl und Mycobacterium in den Schwanz injiziert (150  $\mu$ l einer 10mg/ml Suspension mit Mycobacterium tuberculosis). Nach etwa 10-13 Tagen entwickeln die Tiere Gelenkentzündungen, die bestimmte Charakteristika der rheumatoiden Arthritis des Menschen widerspiegeln. Die Ausbildung dieser Arthritisform wird als Resultat einer sog. Kreuzreaktion der Immunabwehr sowohl gegen Antigene des Mycobacteriums (Heat Shock Protein 60, hsp 60) als auch des Gelenkknorpel interpretiert (Vaneden, Vanderzee et al. 1998).

30

- 25 -

### Beispiel 1

#### Verhinderung der Krankheitsentstehung:

Die Entstehung bzw. der Verlauf der Erkrankung können positiv beeinflusst bzw. verhindert werden. Hierzu wird bei den Ratten vor der Induktion der experimentellen Arthritis Toleranz gegen bestimmte Antigene des Mycobacteriums induziert. Dabei wird das Antigen, z.B. hsp60 oder ein sog. Altered Peptide Ligand entweder oral bzw. nasal als Protein oder Peptide dem Immunsystem präsentiert (Prakken, Wauben et al. 1998), oder als DNA verabreicht (Ragno, Colston et al. 1997), bevor die Sensibilisierung mittels der Öl/Mycobakterium Mischung erfolgt. Die Verabreichung z.B. des APL erfolgt hierzu am Tag -15, -10, -5, und am Tag der Sensibilisierung (100 µg intranasal).

In diesem Beispiel wurden jeweils als 11-β-HSD-Inhibitor Glycyrrhetinsäure (GA) und ein wasserlösliches Derivat derselben, nämlich Carbenoxolon, verwendet.

Wird der Inhibitor (z.B. 1-8 mg intraperitoneal in Öl bzw. intranasal in Kochsalzlösung) zusammen mit dem Antigen bis zur Injektion des Öl/Peptid-Gemischs, d.h. vor der Sensibilisierung, verabreicht, wird letzteres in seiner Wirkung verstärkt und die notwendige Menge Antigen zur Induktion von Toleranz reduziert. Die Erkrankung der Ratten wird dosisabhängig verhindert bzw. in ihre Inzidenz und die Stärke des Verlaufs abgeschwächt. Ferner kann dadurch die zur Toleranzinduktion notwendige Menge Peptid verringert werden.

### Beispiel 2

#### Manipulation des Krankheitsverlaufs nach erfolgter Induktion von Autoimmunarthritiden bzw. nach Einsetzen von Symptomen:

Die induzierte Autoimmunarthritiden verläuft nach Einsetzen der entzündlichen Reaktion 10 Tage nach der Injektion von Freund's Adjuvant mit

- 26 -

Mycobacterium bzw. hsp60 fulminant monophasisch mit einem Krankheitsgipfel um den 27. Tag; nach 40 Tagen sind keine Symptome mehr nachweisbar.

- 5 Der Verlauf der Entzündungsreaktion läßt sich mit Altered Peptide Ligands (APLs) auch nach Einsetzen der Symptome positiv beeinflussen, wenn die Behandlung innerhalb von 24-48 Stunden nach dem Eintreten der ersten Symptome erfolgt und täglich fortgesetzt wird.
- 10 Dazu wird Ratten gleichzeitig während der nasalen Applikation des Proteinantigens (hsp60) oder des APLs der Inhibitor Carbenoxolon injiziert oder über die Nase instilliert (Konzentrationen wie in Beispiel 1).

- Der Anstieg der von Symptominzidenz wird hierbei signifikant günstiger
- 15 beeinflußt als ohne die Hemmung der 11- $\beta$ -HSD. Bestimmte Antigene wie das krankheitsauslösende hsp60, die ohne Carbenoxolon wirkungslos bleiben, führen in Kombination mit Carbenoxolon ebenfalls zur Verbesserung des Krankheitsverlaufs. Bezüglich der Anwendung von Carbenoxolon in Kombination mit APLs läßt sich eine Abschwächung und Verkürzung des
- 20 Krankheitsverlaufs bereits mit suboptimalen Peptidkonzentrationen erzielen.

- Die Tatsache, daß die Hemmung der 11- $\beta$ -HSD mittels des bisher nicht zum therapeutischen Einsatz geeigneten Peptids (hsp60) zur Abschwächung des Krankheitsverlaufs erlaubt, bzw. die Menge an APL verringert, erscheint ein
- 25 starkes Indiz, daß es gelingen kann, auch in Spätstadien Heilversuche mittels oraler Toleranzinduktion erfolgreich zu initiieren. Somit ermöglichen die Daten aus dem Tierversuch einen *ad hoc* Heilversuch zur Unterstützung der Toleranzinduktion beim Menschen.

30 **Beispiel 3**

Abschwächung von experimentell induzierter Arthritis durch alleinige  
Behandlung mit einem 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor

- 27 -

Eine Autoimmunarthritis wurde durch Verabreichung von Freund'schem vollständigen Adjuvans (CVA; 0,4 mg intradermal) experimentell in Ratten induziert. Die Ratten wurden in zwei Gruppen aufgeteilt und einer Gruppe an den Tagen 0, 2 und 4 nach Injektion des CVA 2 mg GRA (Glycyrrhitinsäure) in 200  $\mu$ l Olivenöl intradermal an der Basis des Rattenschwanzes injiziert. Die Ergebnisse der beiden Gruppen sind in Figur 1 dargestellt, die den Verlauf der experimentell induzierten Arthritis ohne (blau) oder mit Behandlung durch den 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor (rot) zeigt. Wie in der Figur 1 deutlich zu sehen ist, führt die Kombination aus Inhibitor und Antigen (in CVA als Mycobakterium t. enthalten) zu einem abgeschwächten Krankheitsverlauf.

Weitere Versuche haben gezeigt, daß bereits der Inhibitor alleine einen milderen Krankheitsverlauf bewirkt, bzw. die krankheitsfördernde Wirkung des CVA abschwächt und somit immunmodulatorisch wirkt.

#### Beispiel 4

##### Verbesserte Wirksamkeit durch mukosale Toleranzinduktion gegenüber einer systemischen Gabe

Es wurde festgestellt, daß eine deutlich verbesserte Wirksamkeit bei der Gabe eines Antigens plus eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors (z.B. Glycyrrhetinsäure) intranasal gegenüber einer Gabe des gleichen Antigens allein bzw. des Antigens plus 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor (z.B. Glycyrrhizinsäure) systemisch (oral) zu beobachten ist. Figur 2 zeigt die verstärkende Wirkung eines 11- $\beta$ -HSD-Inhibitors auf nasale Toleranzinduktion mittels eines Peptidantigens. Hierzu wurde das Peptid 176-190 allen Versuchsgruppen an den Tagen -15, -11, -7 und -3 intranasal vor Induktion eines Krankheitsschubs von experimentell induzierter Arthritis (hervorgerufen durch CFA, wie in Beispiel 3 beschrieben) in 3 %-iger Natriumbicarbonatlösung verabreicht. GRA i.n. (intranasal) wurde in einer Dosis von 0,5 mg in 25  $\mu$ l pro Nasenloch, d.h. insgesamt einer Dosis von 1 mg zugegeben. Die rote Kurve zeigt eine Kontrollgruppe, mit systemischer Verabreichung von Glycyrrhizinsäure im Trinkwasser. Die

- 28 -

blaue Kurve zeigt den Krankheitsverlauf unter Peptidbehandlung ohne Zugabe von GRA und die gelbe Kurve zeigt die erfindungsgemäße Kombination aus Peptid, (Antigen) und 11- $\beta$ -HSD-Inhibitor (z.B. GRA), welche beide intranasal verabreicht wurden.

**Literatur**

- Almawi, W. Y., H. N. Beyhum, et al. (1996). "Regulation of cytokine and  
5 cytokine receptor expression by glucocorticoids." J Leukocyte Biol 60 (5):  
563-572.
- Bernardi, M., P. E. D'Intino, et al. (1994). "Effects of prolonged ingestion  
of graded doses of licorice by healthy volunteers." Life Sci 55 (11): 863-72.
- 10 Bonnin, D. und S. Albani (1998). "Mucosal Modulation Of Immune  
Responses to Heat Shock Proteins In Autoimmune Arthritis." Biotherapy 10  
(3): 213-221.
- 15 Carlsten, H., M. Verdrengh, et al. (1996). "Additive effects of suboptimal  
doses of estrogen and cortisone on the suppression of T lymphocyte  
dependent inflammatory responses in mice." Inflamm Research 45 (1): 26-  
30.
- 20 Chrousos, G. P. (1995). "The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis and the  
immune/inflammatory reaction" N Engl J Med 332 (20): 1351-1362.
- Chung, Y., S. Y. Chang, et al. (1999). "Kinetic analysis of oral tolerance:  
Memory lymphocytes are refractory to oral tolerance." Journal of  
25 Immunology 163 (7): 3692-3698.
- Craft, J. und S. Fatenejad (1997). "SELF ANTIGENS AND EPITOPE  
SPREADING IN SYSTEMIC AUTOIMMUNITY [Review]." Arthritis &  
Rheumatism 40 (8): 1374-1382.
- 30 Cupps, T. R. und A. S. Fauci (1982). "Corticosteroid-mediated  
immunoregulation in man." Immunol. Rev. 65: 133-155.

- 30 -

Fairchild, P.J., et al., Current Opinion in Immunology (2000), 12:528-536.

Falcioni F., K. Ito, et al. (1999), "Peptidomimetic compounds that inhibit antigen presentation by autoimmune disease-associated class II major histocompatibility molecules." Nature Biotechnology 17(6):562-567.

Gruber, J., R. Sgonc, et al. (1994). "Thymocyte apoptosis induced by elevated endogenous corticosterone levels." Eur. J. Immunol. 24: 1115-1121.

Gutgemann, I., A. M. Fahrner, et al. (1998). "Induction of rapid T cell activation and tolerance by systemic presentation of an orally administered antigen." Immunity 8 (6): 667-73.

Horigome, H., A. Horigome, et al. (1999). "Glycyrrhetic acid-induced apoptosis in thymocytes: impact of 11beta- hydroxysteroid dehydrogenase inhibition." Am J Physiol 277 (4 Pt 1): E624-E630.

Hult, M., H. Jornvall, et al. (1998). "Selective inhibition of human type 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase by synthetic steroids and xenobiotics." FEBS Letters 441 (1): 25-28.

Jansson, L. und R. Holmdahl (1998). "ESTROGEN-MEDIATED IMMUNOSUPPRESSION IN AUTOIMMUNE DISEASES [Review]." Inflammation Research 47 (7): 290-301.

de Jong, E., et al., J. Leukocyte Biol. 66 (1999), 201-204.

Jörnvall, H., et al. FEBS Letters 445 (1999) 261-264.

Kapsenberg M.L., et al., Current Opinion in Immunology 1998, 10:607-613.

- 31 -

- 1 Krahenbuhl, S., F. Hasler, et al. (1994). "Analysis and pharmacokinetics of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid in humans and experimental animals." Steroids 59 (2): 121-6.
- 5 Krozowski, Z. (1999). "The 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: functions and physiological effects." Mol Cell Endocrinol 151 (1-2): 121-7.
- Latouche, J.B. und M. Sadelain (2000), "Induction of human cytotoxic T lymphocytes by artificial antigen-presenting cells". Nature Biotechnology  
10 18(4):405-409.
- Lee, D. J., M. Corr, et al. (1998). "Control of Immune Responses By Gene Immunization." Annals of Medicine 30 (5): 460-468.
- 15 Leech, M., C. Metz, et al. (1998). "Involvement Of Macrophage Migration Inhibitory Factor In the Evolution Of Rat Adjuvant Arthritis." Arthritis & Rheumatism 41 (5): 910-917.
- Liblau, R., R. Tisch, et al. (1997). "SYSTEMIC ANTIGEN IN THE  
20 TREATMENT OF T-CELL-MEDIATED AUTOIMMUNE DISEASES [Review]." Immunology Today 18 (12): 599-604.
- Lobell, A., R. Weissert, et al. (1999). "Presence of CpG DNA and the Local Cytokine Milieu Determine the Efficacy of Suppressive DNA Vaccination in  
25 Experimental Autoimmune Encephalomyelitis." J Immunol 163 (9): 4754-4762.
- Lundin, B. S., M. R. Karlsson, et al. (1999). "Active suppression in orally tolerized rats coincides with in situ transforming growth factor-beta (TGF-beta) expression in the draining lymph nodes." Clinical & Experimental Immunology 116 (1): 181-187.
- 30



- 32 -

Marx, J. (1995). "How the glucocorticoids suppress immunity" Science 270 (5234): 232-3.

5 Mason, D. und F. Powrie (1998). "Control of immune pathology by regulatory T cells [Review]." Current Opinion in Immunology 10 (6): 649-655.

Matyszak M., et al., Eur. J. Immunol. 30 (2000), 1233-1242.

10 McCluskie, M. J. und H. L. Davis (1999). "Novel strategies using DNA for the induction of mucosal immunity [Review]." Critical Reviews in Immunology 19 (4): 303-329.

15 McCluskie, M. J., C. L. B. Millan, et al. (1999). "Route and method of delivery of DNA vaccine influence immune responses in mice and non-human primates." Molecular Medicine 5 (5): 287-300.

20 Moudgil, K. D. (1998). "DIVERSIFICATION OF RESPONSE TO HSP65 DURING THE COURSE OF AUTOIMMUNE ARTHRITIS IS REGULATORY RATHER THAN PATHOGENIC [Review]." Immunological Reviews 164: 175-184.

25 Mowat, A. M., A. G. Lamont, et al. (1988). "Suppressor T cells, antigen-presenting cells and the role of I-J restriction in oral tolerance to ovalbumin." Immunology 64 (1): 141-5.

Oppermann, U.C.T., et al. Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism 6, Hrsg. Weiner et al., Plenum Press, New York, 1996, S. 403.

30 Piemonti, L., P. Monti, et al. (1999). "Glucocorticoids increase the endocytic activity of human dendritic cells." International Immunology 11 (9): 1519-1526.

- 33 -

Piemonti, L., P. Monti, et al. (1999). "Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation." Journal of Immunology 162 (11): 6473-6481.

- 5     Prakken, B., M. Wauben, et al. (1998). "Nasal Administration Of Arthritis-Related T Cell Epitopes Of Heat Shock Protein 60 As a Promising Way For Immunotherapy In Chronic Arthritis." Biotherapy 10 (3): 205-211.

- Prakken, B.J., R. Vanderzee et al. (1997). "Peptide-induced nasal tolerance  
10     for a mycobacterial heat shock protein 60T cell epitope in rats suppresses both adjuvant arthritis and nonmicrobially induced experimental arthritis." Proc. Natl. Acad. Sci USA 94(7): 3284-3289.

- Ragno, S., M. J. Colston, et al. (1997). "Protection of rats from adjuvant  
15     arthritis by immunization with naked DNA encoding for mycobacterial heat shock protein 65." Arthritis Rheum 40 (2): 277-283.

Ramirez F. et al., Eur. J. Immunol. 2000, 30:747-758.

- 20     Rea D., et al. Blood, 95 (10), (2000), 3162-3167.

Reid D.S., et al., Current Opinion in Immunology 2000, 12:114-121.

- Rizzo, L. V., R. A. Morawetz, et al. (1999). "IL-4 and IL-10 are both  
25     required for the induction of oral tolerance." Journal of Immunology 162 (5): 2613-2622.

Rook GAW et al. (2000) Immunology Today 10: 503-508.

- 30     Schambelan, M. (1994). "Licorice ingestion and blood pressure regulating hormones." Steroids 59 (2): 127-30.

- 34 -

- Seddon, B. und D. Mason (1999). "Regulatory T cells in the control of autoimmunity: the essential role of transforming growth factor beta and interleukin 4 in the prevention of autoimmune thyroiditis in rats by peripheral CD4(+)CD45RC(-) cells and CD4(+)CD8(-) thymocytes." Journal of Experimental Medicine 189 (2): 279-288.
- Segal, B. M. und E. M. Shevach (1998). "The Straight Talk On Immune Deviation." Clinical Immunology and Immunopathology 88 (1): 1-3.
- Shevach E.M., Annu. Rev. Immunol. 2000, 18:423-449.
- McSorley S.J., et al. Immunology Today, Vol. 20, Nr. 12 (1999) 555.
- Stewart, P. M. und Z. S. Krozowski (1999). "11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase." Vitam Horm 57: 249-324.
- Strobel, S. und A. M. Mowat (1998). "IMMUNE RESPONSES TO DIETARY ANTIGENS - ORAL TOLERANCE [Review]." Immunology Today 19 (4): 173-181.
- Tsitoura, D. C., R. H. DeKruyff, et al. (1999). "Intranasal exposure to protein antigen induces immunological tolerance mediated by functionally disabled CD4(+) T cells." Journal of Immunology 163 (5): 2592-2600.
- Tsitoura et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol. 16, Nr. 2 (2000).
- Ulick, S., J. Z. Wang, et al. (1993). "The effect of carbenoxolone on the peripheral metabolism of cortisol in human patients" J Lab Clin Med 122 (6): 673-6.

- 35 -

Vaneden, W., R. Vanderzee, et al. (1998). "HEAT-SHOCK PROTEIN T-CELL  
EPITOPES TRIGGER A SPREADING REGULATORY CONTROL IN A  
DIVERSIFIED ARTHRITOGENIC T-CELL RESPONSE [Review]." Immunological Reviews 164: 169-174.

5

Weiner, H. L. (1997). "Oral tolerance: Immune mechanisms and treatment  
of autoimmune diseases." Immunol Today 18 (7): 335-343.

10 Wilckens, T. und R. Derijk (1997). "Glucocorticoids and Immune Function -  
Unknown Dimensions and New Frontiers." Immunology Today 18 (9): 418-  
424.

Williams et al., (2000), J. Biol. Chem. 275(39): 30232-30239.

15 Wu, J.M., B. Wu, et al. (2000), "Targeting antigen-specific T cells by  
genetically engineered antigen presenting cells - A strategy for specific  
immunotherapy of autoimmune disease." Journal of Neuroimmunology  
106(1-2): 145-153.

### Ansprüche

1. Arzneimittel, umfassend als Wirkstoff einen Inhibitor der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Kombination mit einem Antigen.  
5
2. Arzneimittel nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß der Inhibitor und das Antigen getrennt vorliegen.  
10
3. Arzneimittel nach Anspruch 1 oder 2, für die Toleranzinduktion.
4. Arzneimittel nach Anspruch 3 für die mucosale Toleranzinduktion.
- 15 5. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation.
6. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
20 daß der Inhibitor spezifisch ist für die Isoform 1 oder 3 der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase.
7. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
25 daß der Inhibitor ausgewählt ist aus endogenen und exogenen Hemmstoffen der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase und Antisense-Nukleinsäuren, die mit Sequenzen, die für 11- $\beta$ -HSD codieren, hybridisieren, Antikörpern gegen 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase oder/und Transkriptionsregulatoren für 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase.  
30
8. Arzneimittel nach Anspruch 7,

- 37 -

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der Inhibitor ausgewählt ist aus Glycyrrhetinsäure und Derivaten davon, insbesondere Glycyrrhizin, Glycyrrhizinsäure und Carbenoxolon.

5

9. Arzneimittel nach Anspruch 7,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der Inhibitor ausgewählt ist aus Furosemid und Derivaten davon.

10

10. Arzneimittel nach Anspruch 7,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der Inhibitor ausgewählt ist aus Flavonoiden und Derivaten davon.

15

11. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß das Antigen ausgewählt ist aus synthetischen und natürlichen Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren, Altered Peptide Ligands (APL), Kohlenhydraten, einschließlich Polysacchariden, Lipopolysacchariden, Antigenen aus biologischen Ressourcen und niedermolekularen Substanzen.

20

12. Arzneimittel nach Anspruch 11,

**dadurch gekennzeichnet,**

25

daß es das Antigen in Form einer dafür kodierenden Nukleinsäure enthält.

13. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

**dadurch gekennzeichnet,**

30

daß das Antigen ein Bystander-Antigen ist.

14. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

- 38 -

dadurch gekennzeichnet,

daß das Antigen aus Antigenen ausgewählt ist, welche mit den folgenden Krankheiten assoziiert sind: Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Uveitis, Diabetes Typ I, Lupus Erythematodes.

5

15. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,

daß das Antigen ausgewählt ist aus körpereigenen und anderen Heat Shock Proteinen, Proteolipid, MBP, MOG und Zellbestandteilen der Uvea, der Haut, Epithelien, der Schilddrüse, der Basalmembran, der Muskeln, der Nervenzellen, des Thymus oder der roten Blutkörperchen.

10

16. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche 5 bis 8,  
dadurch gekennzeichnet,

15

daß das Antigen ausgewählt ist aus Benzylpenicilloyl, Insulin, Ovalbumin, Lactalbumin, Pollenbestandteilen, Nahrungsmittelbestandteilen und Hausstaubmilbenbestandteilen.

20

17. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß es zusätzlich pharmazeutisch annehmbare Hilfsstoffe, Zusatzstoffe oder/und Adjuvantien umfaßt.

25

18. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Antigenpräsentation mittels dendritischer Zellen erfolgt.

30

19. Arzneimittel nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Antigenpräsentation mittels T-Zellen erfolgt.

- 39 -

20. Verwendung einer 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zur Gewinnung eines Arzneimittels zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung und/oder Immunmodulation.
- 5 21. Verwendung einer 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zur Gewinnung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Autoimmunerkrankungen, Allergien, Transplantatabstoßung und graft versus host disease.
- 10 22. Verwendung eines Inhibitors der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zur Herstellung eines Arzneimittels zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation.
- 15 23. Verwendung von Inhibitoren der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Kombination mit einem Antigen zur Toleranzinduktion, Entzündungshemmung oder/und Immunmodulation.
24. Verwendung nach Anspruch 20 bis 23,  
dadurch gekennzeichnet,  
20 daß man als Inhibitor eine Substanz einsetzt, welche für ein oder mehrere Isoenzyme der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase spezifisch ist.
- 25 25. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 24,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß man als Inhibitor endogene oder exogene Hemmstoffe der 11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase oder Antisense-Nukleinsäuren einsetzt.
- 30 26. Verwendung nach Anspruch 25,  
dadurch gekennzeichnet,



- 40 -

daß man als Inhibitor Glycyrrhetinsäure oder Derivate davon, insbesondere Glycyrrhizin, Glycyrrhizinsäure oder Carbenoxolon einsetzt.

- 5      27.    Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 20 bis 26, **dadurch gekennzeichnet,**  
daß eine Verbesserung der mukosalen Toleranzinduktion erreicht wird.
- 10     28.    Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 20 bis 27, **dadurch gekennzeichnet,**  
daß das Antigen ausgewählt wird aus synthetischen und natürlichen Proteinen, Peptiden, Kohlenhydraten einschließlich Polysacchariden, Lipopolysacchariden und Antigenen aus biologischen Ressourcen.
- 15     29.    Verwendung nach Anspruch 28, **dadurch gekennzeichnet,**  
daß das Antigen ein Bystander-Antigen ist.
- 20     30.    Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 20 bis 29, **dadurch gekennzeichnet,**  
daß das Antigen aus Antigenen ausgewählt wird, welche mit den folgenden Krankheiten assoziiert sind: Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Uveitis, Diabetes Typ I, Lupus Erythematodes.
- 25     31.    Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 20 bis 30, **dadurch gekennzeichnet,**  
daß das Antigen ausgewählt wird aus körpereigenen und anderen Heat Shock Proteinen, Proteolipid, MBP, MOG und Zellbestandteilen  
30     der Uvea, der Haut, verschiedener Epithelien, der Schilddrüse, der Basalmembran, der Muskeln, der Nervenzellen, des Thymus oder der roten Blutkörperchen.

- 41 -

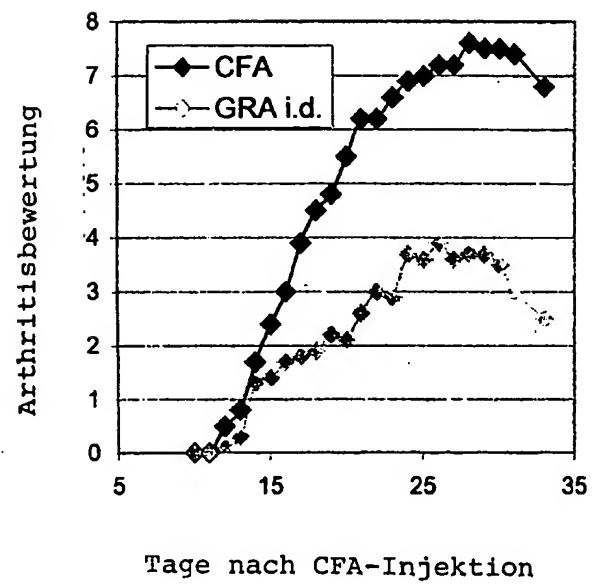
32. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche 20 bis 31,  
dadurch gekennzeichnet,

daß das Antigen ausgewählt wird aus Benzylpenicilloyl, Insulin,  
Ovalbumin, Lactalbumin, Pollenbestandteilen, Nahrungsmittel-  
bestandteilen und Hausstaubmilbenbestandteilen.

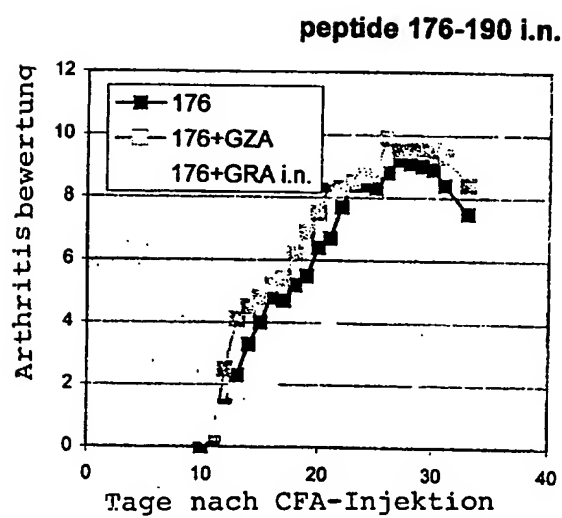
33. Verfahren zur Induktion von Toleranz zur Bekämpfung von Auto-  
immunkrankheiten, Allergien und der Transplantatabstoßung und  
GVHD, umfassend

Behandeln eines Säugetieres oder eines Menschen, der einer solchen  
Behandlung bedarf mit einer wirksamen Menge eines Inhibitors der  
11- $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Kombination mit einer  
mukosalen Verabreichung des Antigens oder einer Verabreichung  
einer für das Antigen kodierenden Nukleinsäure.

Figur 1



Figur 2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. No.

PCT/EP 00/10594

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K39/00 A61K39/395 A61P37/00 //(A61K39/00,31:70),  
(A61K39/00,31:56), (A61K39/00,31:57), (A61K39/00,31:352),  
(A61K39/00,31:341), (A61K39/00,31:7088), (A61K39/395,39:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, EMBASE, SCISEARCH

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 591 771 A (MARKONIUS MARIA) 7 January 1997 (1997-01-07)  the whole document, in particular claims 1,4	1-7, 10-19, 22-25, 27-33
X	WO 91 04030 A (UNIV UTAH) 4 April 1991 (1991-04-04)  the whole document	1-8, 11-19, 22-25, 27-33
X	GB 1 083 815 A (WELLCOME FOUND) 20 September 1967 (1967-09-20)  the whole document	1-8, 11-19, 22-33
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May 2001

Date of mailing of the international search report

01/06/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stein, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern 1st Application No  
PCT/EP 00/10594

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 90 04399 A (UNIV EDINBURGH) 3 May 1990 (1990-05-03) the whole document ---	20-22, 24-26
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199241 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1992-337593 XP002167668 & JP 04 243833 A (TSUMURA & CO), 31 August 1992 (1992-08-31) abstract ---	20-22, 24,25
X	US 5 527 890 A (MUSSEY JOHN H ET AL) 18 June 1996 (1996-06-18) column 1, line 18 column 7, line 50 - line 53 example 10 ---	22,24-26
X	KROES B H ET AL: "Inhibition of human complement by beta-glycyrrhetic acid." IMMUNOLOGY, vol. 90, no. 1, 1997, pages 115-120, XP002167665 ISSN: 0019-2805 the whole document ---	22,24-26
X	AUTERI A ET AL: "Effect of a long-term treatment with two different corticosteroids on patients suffering from rheumatoid arthritis: Clinical and immunological study." INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 10, no. 2, 1994, pages 67-75, XP001002029 ISSN: 0255-9625 the whole document ---	22,24,25
A	RAO CHAVALI S ET AL: "AN IN VITRO STUDY OF IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF SOME SAPONINS" INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOPHARMACOLOGY,US,ELMSFORD,NY, vol. 9, no. 6, 1987, pages 675-683, XP000863703 ISSN: 0192-0561 the whole document ---	
	-/--	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 00/10594

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>HULT MALIN ET AL: "Selective inhibition of human type 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase by synthetic steroids and xenobiotics." FEBS LETTERS, vol. 441, no. 1, 11 December 1998 (1998-12-11), pages 25-28, XP002167666 ISSN: 0014-5793 cited in the application das ganze Dokument, insbesondere Tabelle 3</p>	1-33
A	<p>DI ZHANG YIN ET AL: "Inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase obtained from guinea pig kidney by furosemide, naringenin and some other compounds." JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, vol. 49, no. 1, 1994, pages 81-85, XP001002027 ISSN: 0960-0760 the whole document</p>	1-33

## Continuation of box I.1

Although claims 23-33 (with claims 24-32 related to claim 23) concern a method for the treatment of the human/animal body, the search was carried out on and based upon the cited effects of the compound/composition.

## Continuation of box I.2

Claims: 1-7, 11-19, 22-25, 27-33 all partly

Relevant patent claims 1-7, 11-19, 22-25 and 27-33 relate to a substance each characterised by a worthwhile peculiarity or quality, namely the inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase. The patent claims, however, contain no structural or essential characteristics of said substance.

For this reason the patent claims comprise all the substances which exhibit this peculiarity or quality, whereas the description of the patent application provides support under the terms of PCT Article 5 for only a limited number of such substances. In the case in question, the patent claims lack the corresponding support or the patent application lacks the necessary disclosure to such a degree that a meaningful search appears impossible to conduct with respect to the entire scope for which protection is sought. Nevertheless, the patent claims also lack the clarity required in PCT Article 6, whereby an attempt was made to define the substance in terms of the desired outcome. This absence of clarity is such that it makes it impossible to conduct a meaningful search with respect to the entire scope for which protection is sought. For this reason the search was directed at the sections of the patent claims which can be regarded as clear, supported or disclosed in the above-mentioned sense, namely the sections concerning the substances described on page 17, line 22 – page 18, line 6 of the application and in patent claims 8-10 and 26.

The applicant is reminded that claims, or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case, irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report (Article 19 PCT) or during any Chapter II procedure whereby the applicant provides new claims.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Interr. Application No

PCT/EP 00/10594

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5591771 A	07-01-1997	US 5449794 A	12-09-1995
		AT 148341 T	15-02-1997
		AU 668348 B	02-05-1996
		AU 1277992 A	15-09-1992
		CA 2104114 A	16-08-1992
		DE 69217206 D	13-03-1997
		DE 69217206 T	28-08-1997
		DK 571491 T	11-08-1997
		EP 0571491 A	01-12-1993
		EP 0707851 A	24-04-1996
		ES 2100335 T	16-06-1997
		JP 6508103 T	14-09-1994
		NZ 241633 A	27-06-1994
		WO 9214458 A	03-09-1992
		US 5861430 A	19-01-1999
WO 9104030 A	04-04-1991	AT 192651 T	15-05-2000
		AU 652130 B	18-08-1994
		AU 6501990 A	18-04-1991
		AU 667018 B	29-02-1996
		AU 7572794 A	08-12-1994
		CA 2066716 A	26-03-1991
		DE 69033541 D	15-06-2000
		DK 494224 T	07-08-2000
		EP 0494224 A	15-07-1992
		JP 2505313 B	05-06-1996
		JP 5502856 T	20-05-1993
		US 5540919 A	30-07-1996
		US 5562910 A	08-10-1996
		US 5518725 A	21-05-1996
		US 5827841 A	27-10-1998
		US 5753237 A	19-05-1998
		US 5919465 A	06-07-1999
		US 5824313 A	20-10-1998
		US 5837269 A	17-11-1998
GB 1083815 A	20-09-1967	NONE	
WO 9004399 A	03-05-1990	NONE	
JP 4243833 A	31-08-1992	NONE	
US 5527890 A	18-06-1996	AU 6529194 A	08-11-1994
		CA 2160370 A	27-10-1994
		EP 0693079 A	24-01-1996
		JP 8508997 T	24-09-1996
		WO 9424145 A	27-10-1994
		US 5837690 A	17-11-1998
		US 5763582 A	09-06-1998
		US 5688922 A	18-11-1997
		US 5679644 A	21-10-1997

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10594

<b>A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 A61K39/00 A61K39/395 A61P37/00 //(A61K39/00,31:70), (A61K39/00,31:56), (A61K39/00,31:57), (A61K39/00,31:352), (A61K39/00,31:341), (A61K39/00,31:7088), (A61K39/395,39:00) Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K  Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen  Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, EMBASE, SCISEARCH		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 591 771 A (MARKONIUS MARIA) 7. Januar 1997 (1997-01-07)  das ganze Dokument, insbesondere Ansprüche 1,4  ---	1-7, 10-19, 22-25, 27-33
X	WO 91 04030 A (UNIV UTAH) 4. April 1991 (1991-04-04)  das ganze Dokument  ---	1-8, 11-19, 22-25, 27-33
X	GB 1 083 815 A (WELLCOME FOUND) 20. September 1967 (1967-09-20)  das ganze Dokument  ---	1-8, 11-19, 22-33
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen		
<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche  17. Mai 2001		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts  01/06/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Stein, A

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10594

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 90 04399 A (UNIV EDINBURGH) 3. Mai 1990 (1990-05-03) das ganze Dokument ---	20-22, 24-26
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199241 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1992-337593 XP002167668 & JP 04 243833 A (TSUMURA & CO), 31. August 1992 (1992-08-31) Zusammenfassung ---	20-22, 24,25
X	US 5 527 890 A (MUSSER JOHN H ET AL) 18. Juni 1996 (1996-06-18) Spalte 1, Zeile 18 Spalte 7, Zeile 50 - Zeile 53 Beispiel 10 ---	22,24-26
X	KROES B H ET AL: "Inhibition of human complement by beta-glycyrrhetic acid." IMMUNOLOGY, Bd. 90, Nr. 1, 1997, Seiten 115-120, XP002167665 ISSN: 0019-2805 das ganze Dokument ---	22,24-26
X	AUTERI A ET AL: "Effect of a long-term treatment with two different corticosteroids on patients suffering from rheumatoid arthritis: Clinical and immunological study." INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Bd. 10, Nr. 2, 1994, Seiten 67-75, XP001002029 ISSN: 0255-9625 das ganze Dokument ---	22,24,25
A	RAO CHAVALI S ET AL: "AN IN VITRO STUDY OF IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF SOME SAPONINS" INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOPHARMACOLOGY,US,ELMSFORD,NY, Bd. 9, Nr. 6, 1987, Seiten 675-683, XP000863703 ISSN: 0192-0561 das ganze Dokument ---	

-/-

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 00/10594

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>HULT MALIN ET AL: "Selective inhibition of human type 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase by synthetic steroids and xenobiotics."  FEBS LETTERS,  Bd. 441, Nr. 1,  11. Dezember 1998 (1998-12-11), Seiten 25-28, XP002167666  ISSN: 0014-5793  in der Anmeldung erwähnt  das ganze Dokument, insbesondere Tabelle 3  -----</p>	1-33
A	<p>DI ZHANG YIN ET AL: "Inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase obtained from guinea pig kidney by furosemide, naringenin and some other compounds."  JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY,  Bd. 49, Nr. 1, 1994, Seiten 81-85, XP001002027  ISSN: 0960-0760  das ganze Dokument  -----</p>	1-33

## WEITERE ANGABEN

PCT/SA/ 210

## Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 23-33 (mit Ansprüchen 24-32 bezogen auf Anspruch 23) sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

## Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-7,11-19,22-25,27-33 alle teilweise

Die geltenden Patentansprüche 1-7,11-19,22-25 und 27-33 beziehen sich auf eine Substanz, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich die Hemmung der 11-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase. Die Patentansprüche enthalten jedoch keinerlei strukturelle oder essentielle Charakteristika dieser Substanz.

Die Patentansprüche umfassen daher alle Substanzen, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Substanzen liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, die Substanz über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend die Substanzen beschrieben auf Seite 17 Zeile 22 - Seite 18 Zeile 6 der Anmeldung und in den Patentansprüchen 8-10 und 26.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern .ales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10594

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5591771 A	07-01-1997	US 5449794 A	12-09-1995
		AT 148341 T	15-02-1997
		AU 668348 B	02-05-1996
		AU 1277992 A	15-09-1992
		CA 2104114 A	16-08-1992
		DE 69217206 D	13-03-1997
		DE 69217206 T	28-08-1997
		DK 571491 T	11-08-1997
		EP 0571491 A	01-12-1993
		EP 0707851 A	24-04-1996
		ES 2100335 T	16-06-1997
		JP 6508103 T	14-09-1994
		NZ 241633 A	27-06-1994
		WO 9214458 A	03-09-1992
		US 5861430 A	19-01-1999
WO 9104030 A	04-04-1991	AT 192651 T	15-05-2000
		AU 652130 B	18-08-1994
		AU 6501990 A	18-04-1991
		AU 667018 B	29-02-1996
		AU 7572794 A	08-12-1994
		CA 2066716 A	26-03-1991
		DE 69033541 D	15-06-2000
		DK 494224 T	07-08-2000
		EP 0494224 A	15-07-1992
		JP 2505313 B	05-06-1996
		JP 5502856 T	20-05-1993
		US 5540919 A	30-07-1996
		US 5562910 A	08-10-1996
		US 5518725 A	21-05-1996
		US 5827841 A	27-10-1998
		US 5753237 A	19-05-1998
		US 5919465 A	06-07-1999
		US 5824313 A	20-10-1998
		US 5837269 A	17-11-1998
GB 1083815 A	20-09-1967	KEINE	
WO 9004399 A	03-05-1990	KEINE	
JP 4243833 A	31-08-1992	KEINE	
US 5527890 A	18-06-1996	AU 6529194 A	08-11-1994
		CA 2160370 A	27-10-1994
		EP 0693079 A	24-01-1996
		JP 8508997 T	24-09-1996
		WO 9424145 A	27-10-1994
		US 5837690 A	17-11-1998
		US 5763582 A	09-06-1998
		US 5688922 A	18-11-1997
		US 5679644 A	21-10-1997